GAP IgG *Helicobacter pylori*
GAP IgA *Helicobacter pylori*
GAP IgM *Helicobacter pylori*

Numéro de catalogue GAP IgG	404 2002
Numéro de catalogue GAP IgA	404 3002
Numéro de catalogue GAP IgM	404 1002

96 tests par trousse

Mode d'emploi

Avant de vous servir du produit pour la première fois, veuillez prendre connaissance du mode d'emploi.

Application

Ce test immunoenzymatique est utilisé pour le dépistage quantitatif des anticorps IgG, IgA ou IgM spécifiques de *Helicobacter pylori*. Ces réactifs doivent être utilisés uniquement pour un diagnostic *in vitro*.

But du dosage

Helicobacter pylori a été retrouvée dans des échantillons de biopsies d'épithélium gastrique démontrant une gastrite type B active[1,2,3,4,5]. Bien que l'origine de l'infection soit inconnue, des rapports démontrent que l'infection à *H. pylori* est associée à la gastrite chronique.[6,7] Une corrélation a été démontrée entre la présence de *H. pylori* et les lésions gastriques dans certains cas d'ulcères du duodénum.[8] La guérison complète de la gastrite après éradication de l'organisme a aussi été rapportée.[9]

H. pylori est un bâtonnet en spirale, recourbé et gram négatif de 0.2 à 0.8 µm de large et 0.5 à 5 µm de long. Il colonise la partie profonde de la couche de gel muqueux et la surface apicale des cellules épithéliales de la muqueuse gastrique. Il peut aussi se retrouver dans l'interstice entre deux cellules épithéliales de la muqueuse.

La présence de *H. pylori* peut être détectée par des méthodes invasives ou non-invasives. Parmi les méthodes invasives, l'analyse peut être réalisée à partir de biopsie, culture, histologie ou test à l'uréase rapide. Les résultats faussement négatifs sont courants parce que le *H. pylori* est distribué de façon très inégale dans les tissus. Parmi les méthodes non-invasives il y a aussi le dépistage d'anticorps anti-*H. pylori* et le test à l'urée en cours d'inspiration à l'aide d'urée radioactive.

Le mécanisme d'infection par *H. pylori* n'est pas bien compris. Il peut survivre dans la muqueuse gastrique, possiblement pendant plusieurs années. *H. pylori* est aussi commun chez les individus considérés en bonne santé, sans symptômes cliniques de la maladie.

Principe du test

Les kits GAP IgG, IgA et IgM sont des dosages ELISA quantitatifs pour le dépistage d'anticorps spécifiques de *H. pylori* dans le sérum humain. Les sérums dilués des patients sont déposés dans les puits de microtitration recouverts d'antigènes de *H. pylori* partiellement purifiés. Les anticorps du sérum, spécifiques de *H. pylori*, réagiront avec les antigènes sur les puits. Les anticorps non spécifiques sont éliminés par lavage. Un conjugué enzymatique anti-IgG, IgA et IgM humain est ajouté et se fixe au complexe antigène-anticorps. Le conjugué enzymatique excédentaire est éliminé par lavage. Après addition du substrat enzymatique, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'anticorps présent dans le sérum patient.

Composition du coffret

PLA H.pylori = Puits recouverts d'antigènes - 1 sachet de 96 puits de microtitration recouverts d'antigènes de *H. pylori*.

CAL 0-4 = Etalons - 5 x 1 mL 0, 12.5, 25, 50 et 100 unités/mL d'anticorps anti-*H. pylori* dans du sérum humain dilué.

CTRL + - = Contrôles - 1 x 1 mL Positif et 1 x 1 mL Négatif en anticorps anti-*H. pylori* dans du sérum humain dilué.

DIL SPE 25X = Diluant pour le sérum concentré - 1 x 20 mL de solution saline de phosphate avec du Tween.

CONJ ENZ = Conjugué enzymatique - 1 x 10 mL d'anticorps anti-IgG, IgA ou IgM humains conjugués à la péroxydase de raifort, dans du tampon TRIS/BSA.

SUBS A TMB = Solution de substrat A - 1 x 8 mL de TMB dans un tampon acétate de DMSO.

SUBS B H2O2 = Solution de substrat B - 1 x 8 mL de peroxyde d'hydrogène dans un tampon acétate.

BUF WASH 50X = Tampon de lavage concentré (50x) - 1 x 20 mL de solution saline de phosphate avec du Tween.

SOLN STOPPING = Solution blocante - 1 x 6 mL de 1 N H_2SO_4.

Conserver à 2-8°C.

Les étalons, les contrôles et le diluant pour le sérum contiennent 0.09% d'azoture de sodium comme agent de conservation.

Matériel complémentaire nécessaire

Lecteur de microplaques.
Laveur de microplaques.
Eprouvettes graduées: de 25, 50 et 100 µL.
Pipettes : de 5 et 10 mL.
Eprouvettes graduées : 500 et 1000 mL.
Tubes dilution échantillons (13x100 mm).
Film plastique.
Eau désionisée.

Précautions

Les composants d'origine humaine utilisés dans la préparation de ce produit ont été testés selon des méthodes approuvées par la FDA et trouvés non-réactifs en antigènes de surface de l'hépatite B (HBsAg), en anticorps anti-HIV-1/2 et en anticorps anti-HCV. Ces composants n'ont pas été testés pour les anticorps anti-HCV, HIV-2, HTLV I ou HTLV-II.
Du fait qu'aucune méthode ne peut garantir de façon absolue l'absence d'agents infectieux, les composants de ce produit doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec les mêmes précautions d'usage que les échantillons patients.

Certains réactifs du kit contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. L'azoture de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des azides métalliques explosifs. Après évacuation de ces produits dans les canalisations, faire couler de l'eau abondamment afin d'éviter toute accumulation d'azoture.

Le diméthyl sulfoxide et H_2SO_4 sont irritants pour la peau et les yeux. Eviter le contact avec la peau et les yeux. Porter des gants et des lunettes de protection. S'il y a contact avec la peau ou les yeux, laver avec de l'eau au moins 5 minutes.

Préparation des réactifs

Diluant pour échantillon de sérum :
Ajouter la totalité du contenu dans un récipient de 500 mL. Rincer le flacon à l'eau pour éliminer les cristaux. Ajouter 480 mL d'eau désionisée. Mélanger soigneusement.

Tampon de lavage :
Ajouter la totalité du contenu dans un récipient de 1 L. Rincer le flacon à l'eau pour éliminer les cristaux. Ajouter 980 mL d'eau désionisée. Mélanger soigneusement.

Solution de substrat :
Mélanger les solutions de substrat A et de substrat B volume à volume. Préparer seulement la quantité nécessaire. Pour 48 puits, ajouter 3 mL de la solution de substrat A à 3 mL de la solution de substrat B. Mélanger soigneusement. Employer cette solution dans l'heure qui suit la reconstitution. Conserver dans le noir ou recouvert d'un papier aluminium.

La solution de lavage, le diluant pour échantillon et les réactifs de la trousse sont stables 60 jours après le premier usage si entreposé à 2-8°C.

Prélèvement des échantillons

Les échantillons doivent être des échantillons de sérum. Le sérum doit être séparé des cellules aussitôt que possible après prélèvement. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés ou hyperlipémiques. Les échantillons de sérum peuvent être gardés au réfrigérateur (2-8°C) jusqu'à 10 jours. Si les échantillons de sérum ne peuvent être analysés dans cette période, ils doivent être conservés à -20°C.

Dilution de l'échantillon de sérum

Chaque échantillon de sérum doit être dilué avec du diluant pour échantillon. Ajouter 25 µL de chaque sérum de patient à 5 mL de diluant pour échantillon. Mélanger soigneusement. **Les contrôles et les calibrateurs sont fournis pré-dilués et prêts à l'emploi.**

Dosage

1. Tous les réactifs et les échantillons doivent être portés à température ambiante (18-25°C) avant utilisation. Sélectionner le nombre de puits nécessaire aux dosages.

2. Pipeter 100 µL d'étalons, d'échantillons de contrôles et de patients dilués dans les puits correspondants. Les contrôles et les calibrateurs sont pré-dilués et prêts à l'emploi. Recouvrir la plaque avec un film plastique et incuber pendant 60 minutes à 24 ± 2°C.

3. Après incubation, jeter le contenu de tous les puits dans l'évier. Laver les puits trois fois avec 300 µL de tampon de lavage. Sécher soigneusement sur papier absorbant avant de réaliser l'étape suivante.

4. Ajouter 100 µL de conjugué enzymatique dans tous les micropuits. Recouvrir la plaque avec un film plastique et incuber pendant 30 minutes à 24 ± 2°C.

5. La solution de substrat doit être préparée avant de réaliser l'étape suivante. Voir le paragraphe Préparation des réactifs pour plus d'information.

6. Après incubation, jeter le contenu de tous les puits dans l'évier. Laver les puits trois fois avec 300 µL de tampon de lavage. Sécher soigneusement sur papier absorbant avant de réaliser l'étape suivante.

7. Ajouter 100 µL de la solution de substrat nouvellement préparée dans tous les puits. Incuber la plaque dans l'obscurité à 24 ± 2°C pendant 10 minutes.

8. Après exactement 10 minutes, ajouter le plus rapidement possible 50 µL de la solution d'arrêt dans

chacun des micropuits. Mélanger les réactifs en tapotant la plaque.

9. Lire les absorbances à 450 nm. La microplaque doit être lue dans les 30 minutes suivant l'addition de la solution d'arrêt. Utiliser un algorithme pour courbe quadratique pour la courbe étalon et le calcul des résultats.

Contrôle de la qualité

Selon les bonnes pratiques de laboratoire, un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être dosés en parallèle avec les sérums des patients. L'obtention de résultats incorrects pour les contrôles peut indiquer une erreur de manipulation, la détérioration des réactifs ou une mauvaise manipulation des échantillons.

	GAP IgG	GAP IgA	GAP IgM
Négatif	< 10 U/mL	< 10 U/mL	< 10 U/mL
Positif	25-50 U/mL	25-50 U/mL	40-70 U/mL
Etalon zéro	< 0,2 mOD	< 0,2 mOD	< 0,2 mOD

Interprétation des résultats

	GAP IgG	GAP IgA	GAP IgM
Positifs	> 20	> 20	> 40
Equivoques	12,5-20	12,5-20	30-40
Négatifs	< 12,5	< 12,5	< 30

Un patient avec des résultats équivoques doit être retesté 2 semaines plus tard et le second échantillon doit être testé simultanément avec le premier.

GAP IgG valeurs attendues

Des essais cliniques du test GAP IgG *H. pylori* ont été réalisés dans quatre centres différents. Un échantillon de 173 patients présentant des symptômes de gastrite a été testé. Le tableau suivant présente le pourcentage de patients, par diagnostic, ayant un résultant positif avec le test GAP IgG.

Diagnostic	Pourcentage
Gastrite Chronique Atrophique	85 - 100 %
Gastrite Superficielle	70 - 95 %
Ulcère Duodénal	85 - 95 %
Ulcère à l'estomac	70 - 90 %

Sensibilité et spécificité

Des essais cliniques du test GAP IgG, IgA et IgM ont été réalisés dans quatre centres. Des patients présentant des symptômes de gastrite ont été testés. Les échantillons de biopsies de ces patients ont été analysés par culture, coloration histologique et/ou test d'uréase. Les résultats du GAP ont été comparés à ceux de l'étude histologique.

	GAP IgG	GAP IgA	GAP IgM
Sensibilité (%)	99,4	92,2	93,8
Spécificité (%)	93,5	82,5	82,0
Précision (%)	97,5	88,5	89,3
Nombre de Patients	277	109	109

Précision intra-série

La précision intra-série a été calculée sur 12 réplicats de trois échantillons de sérum.

GAP IgG

Moyenne (U/mL)	Ecart-type (U/mL)	Coefficient de Variation (%)
11,4	0,8	7,1
21,2	2,3	11,2
45,9	3,6	7,9

GAP IgA

Moyenne (U/mL)	Ecart-type (U/mL)	Coefficient de Variation (%)
6,9	0,4	6,3
26,5	1,1	4,3
48,3	2,6	5,4

GAP IgM

Moyenne (U/mL)	Ecart-type (U/mL)	Coefficient de Variation (%)
10,2	0,5	4,9
25,2	1,4	5,7
44,4	2,5	5,7

Précision inter-série

La précision inter-série a été calculée en dosant trois échantillons de sérum lors de 10 dosages distincts, avec quatre opérateurs différents.

GAP IgG

Moyenne (U/mL)	Ecart-type (U/mL)	Coefficient de Variation (%)
11,6	1,6	13,7
20,6	2,2	10,6
45,3	3,3	7,2

GAP IgA

Moyenne (U/mL)	Ecart-type (U/mL)	Coefficient de Variation (%)
10,6	1,5	14,1
24,3	2,4	9,8
40,2	4,0	10,0

GAP IgM

Moyenne (U/mL)	Ecart-type (U/mL)	Coefficient de Variation (%)
10,1	1,1	11,2
21,2	1,9	8,9
39,7	4,0	10,0

Limites de la méthode

Les tests GAP IgG, IgA et IgM permet un dosage quantitatif de la présence d'anticorps spécifiques au *H. pylori* mais n'est pas indicatif du titre de l'anticorps.

Un résultat positif ne distingue pas colonisation et infection par *H. pylori* et n'indique pas la présence de maladie gastro-intestinale.

Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'anticorps anti-*H. pylori*. La colonisation par *H. pylori* peut être présente à un stade très précoce ou le titre de l'anticorps peut être insuffisant pour être détecté par le test.

Plusieurs équipes ont rapporté que des personnes âgées de plus de 50 ans ont été atteintes très probablement d'infection par *H. pylori* et peuvent montrer un taux très bas mais détectable d'anticorps anti-*H. pylori* sans montrer aucun symptôme clinique. [10,11,12] De plus, l'incidence de la séropositivité peut varier en fonction de la population.[13]

Les tests GAP IgG, IgA ou IgM ne doivent être utilisés que pour les patients ayant des signes et des symptômes cliniques liés à une gastrite. Le test ne doit pas être utilisé pour les patients asymptomatiques.

DISTR.
Bio-Rad Laboratories
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette
France
Tel. : +33 (0)1 47 95 60 00
Fax : +33 (0)1 47 41 91 33

Contacts Bio-Rad:
United States 1-800-227-1600
Australia 61-2-9914-2800 **Austria** 43-1-877-8901
Belgium 32-9-385-5511 **Canada** 905-712-2771
France 33-1-4960-6834 **Germany** 49-89-31884-0
Netherlands 31-318-540666 **Hong Kong** 852-2-789-3300
Italy 39-2-216091 **Japan** 81-3-5811-6266
New Zealand 64-9-443-3099 **Spain** 34-1-661-7085
Sweden 46-8-627-5000 **Switzerland** 41-1-809-5555
United Kingdom 44-1-442-232552

SYMBOLES

	Température de conservation
LOT	Code de fournée
	Expiration
	Fabricant
EC REP	Agent agréé
	Précaution, voir des instructions
IVD	Pour un diagnostic in vitro
REF	N° de catalogue
DISTR.	Distributeur

Biomerica, Inc.
1533 Monrovia Ave.
Newport Beach, California 92663 USA

EC REP

conformément à la directive 98/79/ de la CE sur les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro
MDSS
Burckhardtstrasse 1
30163 Hannover, Allemagne

12/2003

CE